

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Diabetes mellitus merupakan salah satu penyakit metabolik kronik yang terkait dengan gangguan regulasi metabolisme karbohidrat dan lipid yang disebabkan karena fungsi hormon pankreas dan insulin yang tidak normal. Diabetes mellitus ditandai dengan peningkatan kadar gula dalam darah. Setiap tahun jumlah penderita diabetes mellitus selalu mengalami peningkatan. Pada tahun 2035 diprediksi jumlah penderita diabetes akan meningkat hingga 592 juta orang dan diperkirakan untuk pengobatannya akan menghabiskan biaya hingga US \$ 548 miliar pertahun (*International Diabetes Federation*, 2013).

Penderita diabetes mellitus harus membatasi penyerapan makanannya, terutama karbohidrat yang dipecah menjadi glukosa oleh enzim  $\alpha$ -glukosidase (Murray *et al.*, 2009). Pengobatan pilihan pertama yang digunakan untuk mengontrol diabetes mellitus yaitu agen antidiabetik oral salah satunya penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase (Dipiro *et al.*, 2008). Jika kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase dihambat, maka kadar gula dalam darah akan berada pada batas normal (Bösenberg and van Zyl, 2008).

Sistem pengobatan tradisional *Ayurveda* menyatakan bahwa pisang mempunyai khasiat untuk menyembuhkan berbagai penyakit, salah satunya yaitu diabetes mellitus (Swathi *et al.*, 2011). Pemberian ekstrak etanol kulit pisang ambon dapat menurunkan kadar glukosa pada tikus galur putih yang diinduksi aloksan (Berawi *et al.*, 2014). Kulit pisang mengandung komponen aktif seperti flavonoid, tanin, alkaloid, glikosida dan terpenoid (Dhuldhwaj *et al.*, 2016). Pada penelitian sebelumnya menyatakan bahwa bunga pisang (*Musa sp. Var. Nanjangud rasa bale*) mempunyai potensi antihiperlikemi. Bunga pisang mempunyai mekanisme penghambatan yang kuat terhadap  $\alpha$ -glukosidase yang memainkan peran penting dalam manajemen klinis

hiperglikemia dengan nilai  $IC_{50} = 7.79 \pm 0.11 \mu\text{g/mL}$ . Aktivitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase diduga disebabkan oleh adanya senyawa aktif yang terdapat di dalam bunga pisang, yaitu umbelliferone dan lupeol. Hasil identifikasi dengan menggunakan metode spektroskopi menunjukkan bahwa umbelliferon mempunyai nilai  $IC_{50} = 7.08 \pm 0.17 \mu\text{g} / \text{mL}$  dan lupeol mempunyai nilai  $IC_{50} = 7.18 \pm 0.14 \mu\text{g} / \text{mL}$  (Ramith *et al.*, 2014).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan sebelumnya, ekstrak kulit pisang diduga mempunyai kemampuan dalam menghambat kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase. Penelitian ini dilakukan supaya kelak kulit pisang dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal bagi penderita diabetes mellitus.

### **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol 96% kulit pisang ambon, kulit pisang kepok dan kulit pisang raja mempunyai aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase ?
2. Bagaimana kinetika penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase ekstrak etanol 96% kulit pisang yang poten ?

### **C. Tujuan Penelitian**

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah di atas, tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui aktivitas ekstrak etanol 96% kulit pisang ambon, kulit pisang kepok dan kulit pisang raja terhadap penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase.
2. Mengetahui kinetika penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase ekstrak etanol 96% kulit pisang yang poten.

## D. Tinjauan Pustaka

### 1. Deskripsi Tanaman Pisang

#### a. Taksonomi Tanaman Pisang

Klasifikasi tanaman pisang ambon adalah sebagai berikut:

Divisio	: Magnoliophyta
Sub divisio	: Spermatophyta
Classis	: Liliopsida
Sub Classis	: Commelinidae
Ordo	: Zingiberales
Familia	: Musaceae
Genus	: Musa
Spesies	: <i>Musa paradisiaca</i> var. <i>Sapientum</i> (L.) Kunt.

(Suyanti dan Supriyadi, 2008)

Klasifikasi tanaman pisang kepok menurut *United States Departement of Agriculture* (USDA) adalah:

Kerajaan	: Plantae
Sub kerajaan	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Classis	: Liliopsida
Sub classis	: Zingiberidae
Ordo	: Zingiberales
Familia	: Musaceae
Genus	: Musa L.
Spesies	: <i>Musa balbisiana</i>

Klasifikasi tanaman pisang raja adalah sebagai berikut:

Division	: Spermatophyta
Sub divisio	: Angiospermae
Classis	: Monocotyledoneae
Ordo	: Zingiberales
Familia	: Musaceae
Genus	: Musa
Species	: <i>Musa acuminata</i> Colla.

(Tjitrosoepomo, 2007)

## **b. Morfologi**

Pisang adalah salah satu buah yang banyak dikonsumsi karena mudah ditemukan hampir di seluruh belahan dunia (Venkatesh *et al.*, 2013). Tanaman pisang merupakan kumpulan tanaman semak dalam suatu rumpun. Umbi tanaman pisang terdiri atas umbi bagian dalam yang merupakan tempat pusat tumbuh pisang dan umbi bagian luar yang merupakan tempat tumbuhnya akar dan tunas baru. Akar tanaman yang tumbuh di bagian bawah umbi atau bonggol pisang tersebut berbentuk seperti rambut halus yang banyak dan mempunyai panjang hingga 1.5 meter. Batang tanaman pisang merupakan suatu batang semu yang di dalamnya terdapat hati pisang yang tertutup oleh susunan pelepah. Tinggi batang pisang tergantung dari jenisnya yaitu sekitar 3.5 – 7.5 m (Kuswanto, 2007). Daun tanaman pisang mempunyai bentuk lanset dan diperkuat dengan adanya tangkai pisang yang mempunyai panjang hingga 40 cm. Tulang daun terdapat di bagian tengah daun pisang (Suyanti dan Supriyadi, 2008).

Sebagian besar masyarakat Indonesia menyebut bunga tanaman pisang dengan jantung pisang. Bunga tanaman pisang mempunyai bentuk bulat lonjong dan semakin meruncing ke arah ujung. Tangkai bunga mempunyai

diameter 8 cm. Daun pelindung bunga berwarna merah dan mempunyai panjang antara 10 – 25 cm (Cahyono, 2009).

Variasi bentuk buah pisang tergantung dari jenisnya, umumnya mempunyai bentuk bulat bengkok memanjang yang semakin meruncing di bagian ujung dengan diameter 2.5 – 4.5 cm. Daging buah pisang bertekstur lembut. Kulit buah pisang bertekstur tebal hingga tipis dan berwarna kuning setelah matang (Cahyono, 2009). Ketebalan kulit pisang dibagi menjadi tiga macam, yaitu tebal, sedang dan tipis. Serat buah dibagi menjadi dua, yaitu serat kasar dan serat halus (Khasanah dan Marsusi, 2014).

### **c. Kandungan Kimia dan Khasiat**

Senyawa yang berhasil diisolasi dari kulit pisang diantaranya yaitu selulosa, hemiselulosa, arginin, asam aspartat, asam glutamat, valin, fenilamin, dan treonin. Senyawa bioaktif yang terdapat dalam kulit pisang yang diduga memiliki aktivitas farmakologi sebagai agen antidiabetik, antioksidan, antibiotik dan antiinflamasi diantaranya yaitu flavonoid, tanin, terpenoid, glikosida, dan alkaloid. Selain itu di dalam kulit tanaman pisang terdapat pula kandungan vitamin A, C, E, B6, magnesium, dopamin, asam palmitat, fosfor, kalium, galloktekin, besi dan asam lemak (Dhuldhwaj *et al.*, 2016).

## **2. Diabetes mellitus**

### **a. Definisi dan Klasifikasi**

Diabetes mellitus (DM) termasuk ke dalam kelainan metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia dan kelainan metabolisme karbohidrat, protein dan lemak (Wells *et al.*, 2015).

Diabetes mellitus dibagi menjadi beberapa kategori, yaitu:

- 1) Diabetes tipe 1, terjadi karena kerusakan  $\beta$ -sel yang biasanya menyebabkan defisiensi insulin absolut.

- 2) Diabetes tipe 2, terjadi karena hilangnya sekresi insulin progresif pada keadaan resistensi insulin.
- 3) Diabetes mellitus gestasional, diabetes yang didiagnosis pada trimester kedua atau ketiga kehamilan.
- 4) Diabetes khusus dengan adanya penyebab tertentu, misalnya sindrom diabetes monogenik, penyakit pankreas eksokrin, obat-obatan atau bahan kimia yang dapat memicu terjadinya diabetes (penggunaan glukokortikoid, dalam pengobatan HIV / AIDS atau setelah transplantasi organ) (*American Diabetes Association*, 2016).

Diabetes mellitus tipe 1 terjadi akibat kerusakan autoimun sel  $\beta$  pankreas. Angka kejadian lebih sering terjadi pada usia anak dan remaja, namun tidak menutup kemungkinan dapat terjadi pula pada usia berapapun. Individu usia muda memiliki kecepatan kerusakan sel  $\beta$  pankreas lebih cepat dan disertai dengan ketoasidosis, sedangkan orang dewasa dapat mempertahankan sekresi insulin sehingga dapat mencegah terjadinya ketoasidosis selama bertahun-tahun (Dipiro *et al.*, 2008).

Diabetes mellitus tipe 2 memiliki pengaruh genetik sehingga lebih umum terjadi. Diabetes tipe 2 ditandai dengan semakin rendahnya sekresi insulin dari waktu ke waktu. Kejadiannya sering disertai dengan hipertensi dan dislipidemia (Dipiro *et al.*, 2008).

Diabetes gestasional diartikan sebagai intoleransi karbohidrat yang diketahui selama masa kehamilan dan biasanya disertai dengan komplikasi berupa hipoglikemi, hipokalsemi, dan ikterus (Alldredge *et al.*, 2013).

#### **b. Pengembangan Obat Diabetes Mellitus**

Terapi diabetes mellitus dilakukan untuk memperbaiki gejala yang terjadi pada pasien, mencegah resiko terjadinya komplikasi mikrovaskular maupun makrovaskular, menurunkan mortalitas dan memperbaiki kualitas hidup pasien (Wells *et al.*, 2015). Obat antidiabetes yang digunakan secara

peroral merupakan pilihan terapi yang paling banyak digunakan untuk mengurangi kadar gula di dalam darah. Obat–obat itu diantaranya obat golongan sulfonilurea, biguanida, dan inhibitor  $\alpha$ -glukosidase. Sulfonilurea dapat digunakan sebagai obat antidiabetes karena obat tersebut dapat memacu produksi insulin sehingga sekresi insulin akan mengalami peningkatan (Katzung, 2002). Biguanida memberikan efek maksimal dengan adanya insulin endogen. Mekanisme kerja biguanida adalah mencegah terjadinya sintesis glukosa dan memperbanyak penggunaan glukosa dalam jaringan (BPOM, 2009).

Inhibitor enzim  $\alpha$ -glukosidase merupakan salah satu agen terapi yang dapat menghambat perubahan karbohidrat menjadi glukosa di dalam usus, akibatnya absorpsi dari karbohidrat menjadi lebih lama. Obat yang termasuk dalam golongan inhibitor enzim  $\alpha$ -glukosidase adalah akarbose dan miglitol (Wells *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Jung *et al.* (tahun 2006) senyawa seskuiterpenoid dan triterpenoid dari suatu tanaman memiliki potensi sebagai agen penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase.

### 3. Enzim

#### a. Definisi

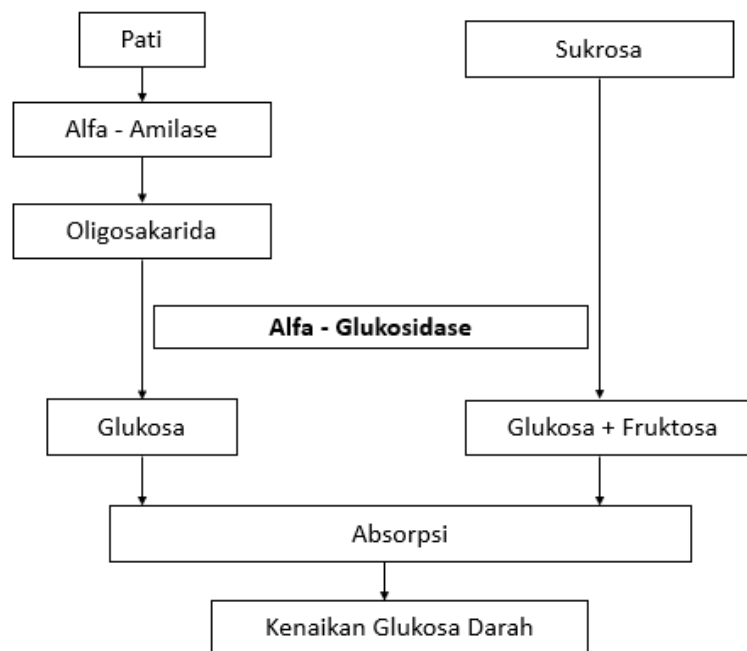
Enzim adalah suatu katalis protein yang dapat mempercepat berjalannya suatu reaksi kimia namun tidak terlibat dalam reaksi kimia tersebut. Bagian aktif dari enzim akan berikatan secara spesifik dengan substrat sehingga akan membentuk suatu kompleks (Champe *et al.*, 2005). Enzim bersifat spesifik pada suatu substrat. Cara untuk mengetahui adanya enzim yaitu dengan menambahkan substrat dan mengamati terbentuk atau tidaknya suatu produk (McPherson & Pincus, 2007).

Kecepatan suatu reaksi dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, pH dan suhu (Murray *et al.*, 2009). Kecepatan reaksi diperoleh dari banyaknya molekul substrat yang diubah menjadi produk tiap unit waktu. Satuan dari kecepatan

reaksi adalah  $\mu\text{mol}/\text{menit}$ . Reaksi akan berhenti jika semua substrat telah berikatan dengan enzim (Champe *et al.*, 2005). Setiap enzim memiliki pH optimum yang berbeda-beda. pH suatu reaksi kimia biasanya disesuaikan dengan pH enzim tersebut dapat bekerja secara optimal (Mc Pherson & Pincus, 2007).

Kenaikan suhu akan menyebabkan kenaikan energi kinetik dari suatu molekul dan enzim. Kenaikan energi kinetik pada molekul dapat memperbanyak terjadinya tabrakan antar molekul, namun kenaikan energi kinetik dari suatu enzim dapat menyebabkan enzim tersebut rusak atau terjadi peristiwa denaturasi (Murray *et al.*, 2003).

#### b. Enzim $\alpha$ -Glukosidase



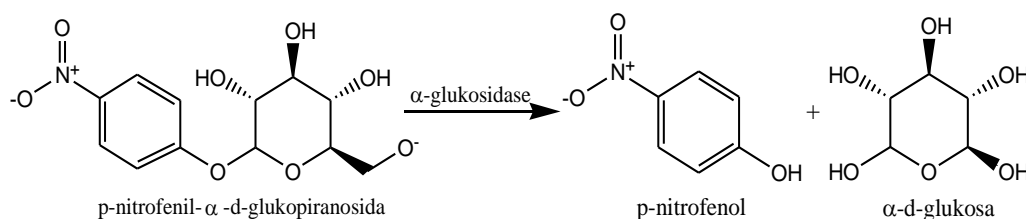
**Gambar 1.** Proses pemecahan karbohidrat menjadi glukosa (Bischoff, 1994)

Enzim alfa glukosidase merupakan suatu enzim yang terlibat dalam pemecahan suatu karbohidrat menjadi glukosa (Gambar 1). Karbohidrat



dipecah menjadi gula yang lebih sederhana untuk kemudian di absorpsi ke dalam tubuh dan berakibat pada tingginya kadar gula dalam darah. Penghambatan kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase dapat dilakukan guna mencegah penguraian karbohidrat dan menghambat absorpsi glukosa sehingga menghindari terjadinya kenaikan kadar glukosa *post-prandial* pada penderita diabetes mellitus (Chisholm-Burn *et al.*, 2008).

Uji penghambatan kerja enzim dapat dilakukan dengan menggunakan enzim  $\alpha$ -glukosidase dan substrat p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (p-NPG). P-nitrofenol merupakan suatu senyawa berwarna kuning yang dihasilkan bersamaan dengan d-glukosa sebagai produk yang terbentuk dari proses hidrolisis substrat oleh enzim (Sugiwati *et al.*, 2009) seperti terlihat pada Gambar 2.



**Gambar 2. Reaksi antara  $\alpha$ -glukosidase dan p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida**

Penghambatan kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase dapat dilakukan dengan terapi tunggal obat antidiabetes oral ataupun kombinasi dengan obat untuk pengobatan diabetes yang lainnya. *Loading dose* atau titrasi dosis diberikan guna menurunkan resiko terjadinya efek samping (Linn *et al.*, 2009). Akarbosa merupakan salah satu obat yang dapat menghambat kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase. Akarbosa termasuk dalam jenis inhibitor kompetitif. Ikatan akarbosa dengan enzim bersifat reversibel. Pemberian terapi bersamaan dengan insulin atau obat hipoglikemik oral (OHO) dapat menyebabkan terjadinya hipoglikemi (Liu *et al.*, 2006).

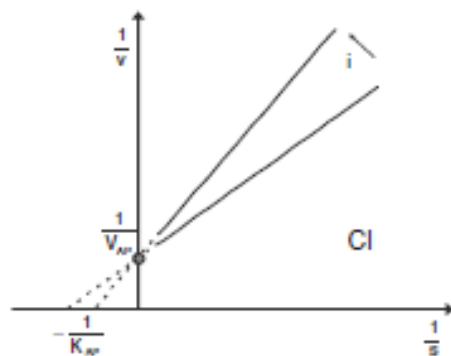
### c. Kinetika Enzim

Skema reaksi katalis-enzim Michaelis dan Menten menjelaskan bahwa ikatan suatu enzim dengan substrat merupakan suatu ikatan yang reversibel, artinya ikatan tersebut akan menghasilkan suatu kompleks enzim-substrat yang kemudian kompleks tersebut akan diuraikan kembali sehingga dihasilkan produk baru dan suatu enzim bebas (Champe *et al.*, 2005).



Inhibitor merupakan suatu agen yang dapat memberikan efek negatif terhadap aktivitas enzim. Klasifikasi inhibitor yang didasarkan pada efeknya terdiri dari inhibitor *reversible* dan inhibitor *irreversible* (Murray *et al.*, 2009). Mekanisme kinetika penghambatan kerja enzim dibagi menjadi empat macam yaitu *competitive inhibition* (CI), *non-competitive inhibition* (NCI), *Uncompetitive Inhibition* (UCI), *mixed type inhibition* (MTI) (Illanes, 2008).

#### 1) Inhibitor Kompetitif

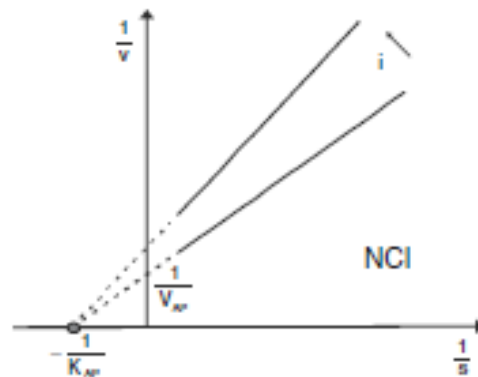


Gambar 3. Grafik Lineweaver-Burk mekanisme inhibitor kompetitif

Penghambatan kompetitif dapat terjadi apabila substrat dan inhibitor mempunyai tempat ikatan yang sama pada enzim, sehingga menyebabkan kompetisi diantara keduanya untuk berikatan dengan enzim

tersebut. Inhibitor kompetitif termasuk dalam kategori inhibitor *reversible*. Hasil yang diperoleh dari penghambatan kompetitif yaitu suatu kompleks enzim-inhibitor (EI). Inhibitor akan menghalangi substrat untuk berikatan dengan enzim sehingga hasil dari reaksi enzim dan substrat tidak terbentuk. Pada grafik mekanisme penghambatan kompetitif terdapat adanya perpotongan pada sumbu y baik pada sistem reaksi dengan atau tanpa adanya sampel ekstrak (inhibitor) seperti terlihat pada Gambar 3. Efektivitas penghambatan kompetitif tergantung pada banyaknya substrat dan inhibitor. Nilai  $K_m$  (konstanta *Michaelis-Menten*) meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi dari inhibitor dalam suatu reaksi.

## 2) Inhibitor Non-Kompetitif

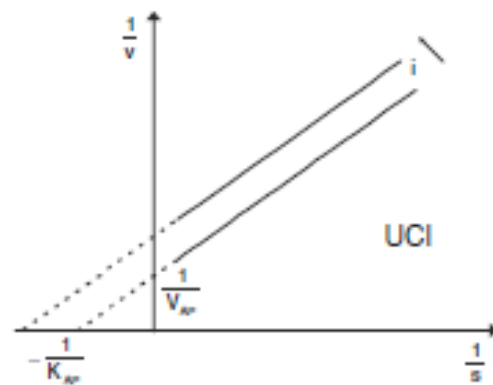


**Gambar 4. Grafik Lineweaver-Burk mekanisme inhibitor non-kompetitif**

Penghambatan non kompetitif dapat terjadi karena tempat ikatan enzim dan inhibitor berbeda dengan tempat ikatan enzim dan substrat sehingga tidak terjadi kompetisi diantara inhibitor dan substrat untuk berikatan dengan enzim. Inhibitor mempunyai struktur molekul yang berlainan dengan struktur molekul substrat. Pada penghambatan ini inhibitor bisa menempel pada enzim bebas atau enzim yang telah berikatan dengan substrat. Pada grafik mekanisme penghambatan non-kompetitif

terdapat adanya perpotongan pada sumbu x baik pada sistem reaksi dengan atau tanpa menggunakan sampel ekstrak (inhibitor) seperti terlihat pada Gambar 4. Nilai  $K_m$  (konstanta *Michaelis-Menten*) tidak terpengaruh dalam mekanisme penghambatan ini, namun terjadi penurunan nilai kecepatan reaksi maksimal ( $V_{max}$ ).

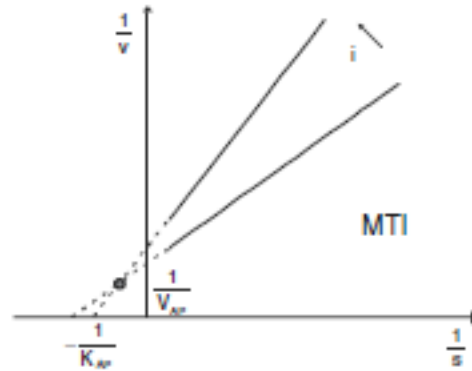
### 3) Inhibitor Unkompetitif



**Gambar 5. Grafik Lineweaver-Burk mekanisme inhibitor unkompetitif**

Pada penghambatan *uncompetitive*, suatu inhibitor dapat berikatan dengan suatu enzim ketika enzim tersebut telah terlebih dahulu terikat pada substrat. Inhibitor tidak akan berikatan dengan enzim bebas. Pada grafik mekanisme penghambatan unkompetitif tidak terlihat adanya perpotongan baik pada sistem reaksi tanpa atau dengan menggunakan sampel ekstrak (inhibitor) seperti terlihat pada Gambar 5. Nilai  $K_m$  (konstanta *Michaelis-Menten*) pada mekanisme penghambatan ini lebih kecil jika dibandingkan dengan sistem reaksi yang tidak menggunakan inhibitor. Nilai kecepatan reaksi maksimal ( $V_{max}$ ) yang diperoleh juga lebih kecil dari sistem reaksi tanpa inhibitor.

#### 4) Inhibitor Tipe *Mix* (campuran)



**Gambar 6. Grafik Lineweaver-Burk mekanisme inhibitor tipe Mix (campuran)**

Mekanisme kerja penghambatan Mix (campuran) serupa dengan mekanisme kerja penghambatan pada inhibitor kompetitif dan inhibitor nonkompetitif. Pada grafik mekanisme penghambatan tipe Mix (campuran) terlihat pada sistem reaksi baik dengan atau tanpa adanya inhibitor pada grafik terdapat adanya perpotongan antara sumbu  $x=0$  dengan sumbu  $y=0$  seperti terlihat pada Gambar 6. Pada penghambatan ini, suatu inhibitor dapat berikatan dengan sisi aktif dari enzim ketika enzim tersebut telah terlebih dahulu terikat pada substrat dan membentuk kompleks enzim-substrat. Nilai  $K_m$  (konstanta *Michaelis-Menten*) dan nilai  $V_{max}$  (kecepatan reaksi maksimal) dipengaruhi oleh mekanisme inhibitor tipe ini. Mekanisme penghambatan ini dibedakan dalam 3 tipe yaitu tipe I jika nilai  $K_{AP} > K$  dan  $V_{AP} < V$ , tipe II jika nilai  $K_{AP} > K$  dan  $V_{AP} > V$ , tipe III jika nilai  $K_{AP} < K$  dan  $V_{AP} < V$ .

### E. Landasan Teori

Ekstrak bunga pisang (*Musa sp. Var. Nanjangud rasa bale*) menurut penelitian sebelumnya terbukti memiliki potensi untuk menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dengan nilai  $IC_{50} = 7.79 \pm 0.11 \mu\text{g/mL}$  atas kandungan senyawa lupeol dan umbelliferone yang dimilikinya. Nilai  $IC_{50}$  yang terdeteksi dari lupeol dan umbelliferone yaitu  $7.18 \pm 0.14 \mu\text{g/mL}$  dan  $7.08 \pm 0.17 \mu\text{g/mL}$ . Ekstrak bunga pisang bekerja dengan mekanisme penghamatan non-kompetitif (Ramith *et al.*, 2014). Lupeol merupakan suatu golongan triterpenoid karena mempunyai rumus molekul  $C_{30}H_{50}O$  (Muharni, 2010). Senyawa golongan triterpenoid memiliki potensi sebagai penghambat kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase (Jung *et al.*, 2006). Umbelliferone termasuk dalam keluarga umbelliferae (Harborne *et al.*, 1999). Umbelliferae termasuk golongan seskuiterpen yang mempunyai aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase (Choudhary, 2001). Alkaloid, tanin, glikosida, flavonoid dan terpenoid merupakan komponen aktif yang dijumpai dalam kulit pisang (Dhuldhwaj *et al.*, 2016). Penelitian yang dilakukan sebelumnya menyatakan bahwa ekstrak etanol kulit pisang ambon dapat menurunkan kadar glukosa pada tikus galur putih yang telah diinduksi aloksan (Berawi *et al.*, 2014).

### F. Hipotesis

1. Ekstrak etanol 96% kulit pisang ambon, kulit pisang kepok dan kulit pisang raja berpotensi untuk menghambat kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase secara *in vitro*.
2. Ekstrak etanol 96% kulit pisang ambon, kulit pisang kepok dan kulit pisang raja bekerja dengan mekanisme penghambatan non-kompetitif.